

## EGÉSZSÉGES ÉS FERTŐZÖTT MEZŐGAZDASÁGI NÖVÉNYEK, VALAMINT *AGARICUS BISPORUS* ILLATANYAGPROFILJÁNAK FELTÉRKÉPEZÉSE – ELŐTANULMÁNY

Radványi Dalma<sup>1,2</sup>, Szelényi Magdolna Olívia<sup>1</sup>, Hamow Kamirán Áron<sup>1</sup>, Ambrózy Zsuzsanna<sup>1</sup>, Lukács Péter<sup>1</sup>, Puskás Katalin<sup>3</sup>, Cséplő Mónika<sup>3</sup> és Molnár Béla Péter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Magyar Tudományos Akadémia, Agrártudományi Kutatóközpont, Növényvédelmi Intézet, Állattani Osztály, 2462 Martonvásár, Brunszvik utca 2.

<sup>2</sup>Szent István Egyetem, Élelmiszer tudományi Kar, Alkalmazott Kémia Tanszék, 1118 Budapest, Villányi út 29-43.

<sup>3</sup>Magyar Tudományos Akadémia, Agrártudományi Kutatóközpont, Mezőgazdasági Intézet, Kalászos Gabona Nemesítési Osztály, 2462 Martonvásár, Brunszvik utca 2.  
e-mail: radvanyi.dalma@gmail.com (radvanyi.dalma@agrar.mta.hu)

*GINOP kutatócsoportunk, E-Orr kutatóműhely „Természetes szagmintázatok elemzése és agrártudományi hasznosítása” címmel 2017-óta működik Martonvásáron. Kutatásaink fő célja egy új típusú mesterséges érzékelő rendszer kifejlesztése, amellyel lehetőség nyílik mezőgazdasági növények komplex illatanyag-összetételének meghatározására. Eddig három növény (búza, árpa, paradicsom), valamint csiperkegomba illatanyagprofil elemzését végeztük el. Méréseink során igazoltuk, hogy különböző fertőzések hatására valóban megváltozik az adott növény illatanyag mintázata, azonban sok esetben csak kis mértékben.*

**Kulcsszavak:** illatanyag-gyűjtés, GC-MS (gázkromatográfia-tömegspektrometria), növényi illatanyagok, fertőzött növények

Kutatócsoportunk „Természetes szagmintázatok elemzése és agrártudományi hasznosítása” címmel 2017-óta működik Martonvásáron. Csoportunk fő célja egy új típusú mesterséges érzékelő rendszer kifejlesztése, amellyel lehetőség nyílhat kártevők és kórokozók jelenlétének korai felderítésre mezőgazdasági kultúrák illatanyag-összetételének változásai alapján. Ehhez első lépésként különböző mezőgazdasági növények egészséges és fertőzött egyedeinek illatanyagprofil vizsgálatát végeztük el.

A növények illékony szerves vegyületek (volatile organic compounds, VOC) széles spektrumát állítják elő metabolikus folyamataik során. A növény szinte bármely része – gyökérzet, szár, levél, virág, termés – képes ezen vegyületek előállítására, tárolására és kibocsátására (Colquhoun és mtsai 2013, Crespo és mtsai 2012, Köllner és mtsai 2004, Laothawornkitkul és mtsai 2009, Owen és mtsai 2002). Számos kutatás foglalkozott már növényi illatanyagok

azonosításával (Dicke és Loreto 2010, Spinelli és mtsai 2011). Az illatanyagok kibocsátását a növény kora, fenológiai stádiuma (Loreto és Schnitzler 2010), illetve abiotikus és biotikus stresszorok jelenléte is befolyásolja (Dudareva és mtsai 2013).

A növények illékony vegyületeinek kinyerésére és gyűjtésére számos módszer létezik. Korábban főleg a roncsolásos, oldószeres extrakciók terjedtek el, napjainkban azonban a roncsolásmentes mintavételi technikák a népszerűbbek. Az ilyen illatanyaggyűjtések egyik típusa az úgynevezett statikus eljárás, amely során a minta feletti légtérben beáll az egyensúly a minta és légtér illékony vegyületi között, ezután történik a mintavétel. A másik típus a dinamikus eljárás, amely során a gőztér folyamatosan megújul, és nem alakul ki az egyensúly. Statikus mintavételi technikák közül az SPME mintavétel (szilárd-fázisú mikroextrakció) (Arthur és Pawliszyn 1990),

1. táblázat

a dinamikus eljárások közül az úgynevezett nyílt vagy zárt rendszerű illatanyaggyűjtés (volatile collection) a legelterjedtebb eljárás (Vuts és mtsai 2018).

Az említett technikákkal lehetőségünk nyílik különböző növényi illatanyagok összegyűjtésére, és a növény illatanyagprofiljában bekövetkező változások kimutatására, nyomon követésére. A hatékony és környezetkímélő védekezés érdekében a fertőzések, illetve kártevők korai detektálása kiemelt fontosságú. Számos kutatócsoport foglalkozott már növényi fertőzések kimutatásával, egészséges növényektől való elkülönítésével illékony vegyületek vizsgálatával (Derendorp és mtsai 2010, Elad és mtsai 2016, Jansen és mtsai 2010, Kasal-Slavik és mtsai 2017, Loreto és mtsai 2006, Schuh és mtsai 1997).

Kísérleteink fő célja termesztett növények illatanyagainak kinyerése különböző mintavételi technikákkal (SPME, volatile collection); az illékony vegyületek elemzése, szerkezeti meghatározása gázkromatográfhoz kapcsolt tömegspektrométerrel (GC-MS). Célunk továbbá az egészséges és fertőzött növények elkülönítése csupán emittált illékony vegyületeik alapján, illetve a fertőzésre jellemző biomarkerek vizsgálata a minél korábbi detektálhatóság érdekében.

## Anyag és módszer

### Kísérleti növények

Kísérleteink elvégzéséhez különböző kultúrnövényeket, búza, árpa, paradicsom és csiperkegombát használtunk. A növények fajtáját és a nevelés körülményeit az 1. táblázat foglalja össze.

### A kísérletbe vont kultúrnövények és fajták, illetve nevelési körülményeik

Növény	Fajta	Nevelés körülményei	
		hőmérséklet	megvilágítás
Búza ( <i>Triticum aestivum</i> )	Carstens V	18 °C	hosszúnappalos
Árpa ( <i>Hordeum vulgare</i> )	Harrington (BC 52), Mv Initium (BC 5), KH Hunor (BC 168)	25 °C	hosszúnappalos
Kukorica ( <i>Zea mays</i> )	NS 640	24 °C	hosszúnappalos
Paradicsom ( <i>Solanum lycopersicum</i> )	Uno Rosso	25 °C	természetes fény
Csiperkegomba ( <i>Agaricus bisporus</i> )	kereskedelmi forgalomban vásárolt		

### Illatanyaggyűjtés

Méréseink során kétféle mintavételi technikát alkalmaztunk (2. táblázat).

A paradicsom és csiperkegomba minták esetén SPME mintavételt alkalmaztunk (2. táblázat). A mintavételnél a mintákat zárt légtérbe helyeztük, hogy kialakuljon az egyensúly a minta és a minta feletti légtérben. A mintavételi idő a növény méretének, a mintavételi hőmérsékletnek és minta feletti légtér mennyiségének függvényében változott.

A búza és árpa minták illatanyag gyűjtéséhez illatanyag gyűjtő berendezést hasz-

2. táblázat

### Mintavétel körülményei

Növény	Mintavétel típusa	Mintavétel körülményei	
		időintervallum	hőmérséklet
Búza	volatile collection – Porapak Q (80-100 mesh)	24 óra	25-30 °C
Árpa	volatile collection – Porapak Q (80-100 mesh)	24 óra	
Kukorica	100 µm PDMS SPME	30 perc	
Paradicsom	50/30 µm DVB/CAR/PDMS SPME	30 perc	
Csiperkegomba	65 µm PDMS/DVB SPME	20 perc	

náltunk. A növényeket a mérés előtt 1 órával üvegburákkal fedtük le, amelyeknek az alsó légbeömlő nyílására aktív szénrel töltött szűrőket szereltünk fel, a felső légkiömlő nyíláshoz 50 mg 80–100-as szemcseméretű Porapak Q adszorbenssel töltött gyűjtőcsöveket csatlakoztattunk. Az illatanyag gyűjtést 1 l/perc térfogat-árammal 24 órán keresztül végeztük.

### Kórokozók

Kísérleteink során kontroll (egészséges) és fertőzött mintákat vizsgáltunk. A fertőzést követően meghatározott napon/napokon történt a mintavétel (3. táblázat).

#### Fertőző ágensek és a mintavétel ideje

Növény	Fertőző ágens	Mintavétel ideje
Búza	<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>Tritici</i> 51-es rassz	a tünetek megjelenésekor, illetve a kór előrehaladott állapotában
Árpa	<i>Pyrenophora teres</i> f. <i>teres</i>	Harrington: a fertőzést követő 7. és 20. napon Mv Initium: a fertőzést követő 8. napon KH Hunor: a fertőzést követő 23. és 37. napon
Kukorica	<i>Diabrotica v. virgifera</i> (gyökér kártétel)	
Paradicsom	<i>Botrytis cinerea</i> (B0510)	a kór előrehaladott állapotában
Csiperkegomba	<i>Trichoderma aggressivum</i> , <i>Dactylium dendroides</i>	8 napon keresztül

### Szerkezet meghatározás (GC-MS)

Méréseinket minden esetben gázkromatográfhoz kapcsolt tömegspektrométerrel (GC-MS) hajtottuk végre. A növényi illatanyagok vizsgálatához Agilent 6890 GC és 5973 MS, a csiperkegomba vizsgálatához Agilent 6890 GC és 5975 C MS kapcsolt analitikai rendszert használtunk. A méréseink során Agilent

HP-5 MS ((5%-fenil)-metilpolisziloxán) Ultra Inert 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) kapilláris oszlopot használtunk az illékony komponensek elválasztásához.

Az SPME mintavételt követően a mintavető szál közvetlenül a GC injektorába került (paradicsom, gomba: 250 °C), ahol megtörtént a komponensek deszorpciója, majd oszlopra jutása. A vivőgáz a növények vizsgálata során hélium (1 ml/perc állandó lineáris áramlási sebesség), a csiperkegomba vizsgálata során hidrogén (1,2 ml/perc állandó lineáris áramlási sebesség) volt.

A dinamikus illatanyaggyűjtést követően az adszorbensen megkötött illatanyagokat 300

#### 3. táblázat

µl kromatográfiás minőségű hexánnal oldottuk le. A mintákat felhasználásig –20 °C-on, fagyasztóban tároltuk. Az analízishez 1 µl-t injektáltunk a gázkromatográfba (injektor hőmérséklet: 270 °C). A mérések során az egyes növényi minták esetében eltérő fűtési programokat dolgoztunk ki az optimális elválasztás érdekében.

Az elválasztott vegyületek detektálásához először 70 eV-os feszültséggel ionizáltuk az elválasztott molekulákat (ionforrás hőmérséklete 150 °C volt, pozitív ionizációs módban (EI+)), majd a 230–250 °C-os tömegspektrométerben történt az ionizált (majd fragmentált) molekulák detektálása. A töltéssel ren-

delkező molekulákat 33–500 m/z tartományban rögzítettük. Az adatok kiértékeléséhez Agilent Mass Hunter Qualitative Analysis B.08.00 programot használtunk, a talált komponensek azonosítását pedig NIST 2017 MS Search tömegspektrum-könyvtárral végeztük. Az azonosítás során kapott vegyület neveket angolul használjuk a kéziratban, hiszen az irodalomban is így tudjuk keresni őket.

## Eredmények és következtetések

### Három különböző árpafajta illatanyagainak változása *Pyrenophora teres* f. *teres* fertőzés hatására

#### Harrington illatanyagprofilja

A Harrington illatanyagprofiljában mechanikai sebzés hatására (*Z*)-3-hexenyl acetate ( $C_8H_{14}O_2$ , találati érték: 93%) vegyület jelent meg a kromatogramon. A *Pyrenophora teres* f. *teres* fertőzése után 20 nappal 7 új vegyület jelent meg a teljes ion kromatogramon (4. táblázat).

4. táblázat

#### Fertőzés utáni 20. napon mintázott Harrington illatanyagprofiljában megjelenő új komponensek listája

Retenciós idő (perc)	Név (angolul)	Képlet	CAS szám
3,61	2-hexanol	$C_6H_{14}O$	626-93-7
4,87	styrene	$C_8H_8$	100-42-5
4,97	heptanal	$C_7H_{14}O$	111-71-7
6,52	octanal	$C_8H_{16}O$	124-13-0
9,40	naphthalene	$C_{10}H_8$	91-20-3
9,56	decanal	$C_{10}H_{20}O$	112-31-2
17,39	6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	$C_{18}H_{36}O$	502-69-2

#### Mv Initium illatanyagprofilja

A fertőzött Mv Initium teljes ion kromatogramja (TIC) két területen különbözött az egészséges növények kromatogramjától: a kromatogram korai ( $t_R < 7$  perc) és középső ( $15 \text{ perc} < t_R < 20$  perc) szakaszán (1. ábra).

A fertőzött Initium növények fertőzött növények illatanyagprofiljában 4 olyan új vegyület jelent meg, amely a fertőzés markere lehet: 2-hexanol, guanidine, 3-hexen-1-ol, eugenol. A fertőzött növények nagyobb intenzitással kezdtek el termelni 6 vegyületet (octane, 1-butoxy-2-propanol, (*Z*)-3-hexenyl acetate, N-butyl-benzenesulfonamide, 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone, dodecyl isobutyl carbonate).

A fertőzés hatására számos vegyület intenzitása csökkent a kontroll növény illékony vegyületeinek intenzitásához képest (ethylbenzene, *p*-xylene, (+)- $\alpha$ -pinene, 1-ethyl-2-methyl-benzene, és 1-ethyl-3-methyl-benzene, mesitylene, (+)-3-carene, D-limonene, indane, linalool, naphthalene).

#### KH Hunor illatanyagprofilja

A vizsgált vegyületek közül három olyan vegyületet találtunk, amelyek intenzitás értéke nőtt az idő előrehaladtával ((+)- $\alpha$ -pinene, sulcatone, 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone). A fertőzési kísérlet végére újonnan megjelenő vegyületeket is detektáltunk (5. táblázat), amelyek feltételezhetően a fertőzés kései marker vegyületei.

5. táblázat

#### Fertőzés végén a KH Hunor illatanyagprofiljában megjelenő új komponensek listája

Retenciós idő (perc)	Név (angolul)	Képlet	CAS szám
5,77	4,4-dimethyl-2-wpentanol	$C_7H_{16}$	6144-93-0
7,12	levomenthol	$C_{10}H_{20}O$	2216-51-5
7,82	1-phenyl-1-butene	$C_{10}H_{12}$	824-90-8
7,86	5-tridecane	$C_{13}H_{26}$	25524-42-9
7,94	1-ethenyl-4-ethylbenzene	$C_{10}H_{12}$	3454-07-07
8,21	2,6-dimethyl-cyclohexanol	$C_8H_{16}O$	5337-72-4
9,02	4-ethylbenzaldehyde	$C_9H_{10}O$	4748-78-1
9,34	4-tert-butylanisole	$C_{11}H_{16}O$	5396-38-3
12,41	2,5-furandione, 3-dodecenyl-	$C_{16}H_{26}O_3$	19780-11-1
17,56	phytyl acetate	$C_{22}H_{42}O_2$	10236-16-5
17,74	Z,E-2,13-octadecadien-1-ol	$C_{18}H_{34}O$	1000131-10-3

Az árpa minták mérési sorozatában talált változásokat az 6. táblázat foglalja össze.

Azt, hogy hogyan változik a növény illatanyag-profilja *Pyrenophora teres*-szel való fertőzés hatására, eddig nem vizsgálták.

## 6. táblázat

**Közös vegyületek változása a három árpafajta (Harrington (BC 52), Mv Initium (BC 5), KH Hunor (BC 168)) illatanyagprofiljában**

Retenciós idő (perc)	Név	BC 52	BC 5	BC 168
3,31	toluene	↑		
3,61	2-hexanol	új	új	
3,63	octane		↓	
4,28	guanidine		új	↓*
4,32	3-hexen-1-ol		új	↓
4,46	ethylbenzene		↑	
4,57	<i>p</i> -xylene		↑	
4,87	styrene	új		
4,91	1,3-dimethyl-benzene		↑	
4,98	heptanal	új		
5,52	(+)- $\alpha$ -pinene	↑	↑	↑
5,57	*1-butoxy-2-propanol		↓	↑
5,77	4,4-dimethyl-2-pentanol			új
5,93	1-ethyl-3-methyl-benzene		↑	
5,95	1-ethyl-2-methyl-benzene		↑	
6,06	3,5,5-trimethyl 2-hexene			–
6,13	1-octen-3-ol			↓*
6,22	*2 vagy 3 vagy 4-ethyltoluene	↓	↑	
6,26	sulcatone-	↑		↑
6,36	2,2,4,6,6-pentamethyl-heptane	↓		
6,43	mesitylene		↑	
6,52	octanal	új		
6,56	(Z)-3-hexenyl acetate	új (sn)	↓	↓*
6,69	(+)-3-carene		↑	
6,97	D-limonene	↑	↑	
7,06	nona-3,5-dien-2-ol			–
7,10	indane		↑	
7,12	levomenthol			új (v.)
7,229	(Z)- $\beta$ -ocimene			↓*
7,635	1,2-oxolinalool			↓*
7,69	6-ethyl-3-octyl ester trichloroacetic acid			új (v.)
7,75	N-[4-bromo-n-butyl]-2-piperidinone			új (v.)
7,82	1-phenyl-1-butene			új (v.)

Retenciós idő (perc)	Név	BC 52	BC 5	BC 168
7,86	5-tridecane			új (v.)
7,94	1-ethenyl-4-ethyl-benzene			új (v.)
8,01	*linalool	új	↑	↓*
8,08	nonanal	↑		↓*
8,21	2,6-dimethyl-cyclohexanol			új (v.)
8,97	azulene	↓		↓*
9,02	4-ethylbenzaldehyde			új (v.)
9,03	3-ethylbenzaldehyde	↓		
9,34	4-tert-butylanisole			új (v.)
9,4	naphthalene	új	↑	
9,59	decanal	új		
10,76	1-(4-ethylphenyl)-ethanone	↓		
11,53	triacetin	↑		
11,76	eugenol		új	
12,23	6-methyl- tridecane	↓		
12,41	2-dodecen-1-yl(-) succinic anhydride			új (v.)
12,70	caryophyllene			↓*
14,02	1-iodododecane	↓		
15,53	butyl dodecyl ether	↓↓		
16,86	N-butyl-benzenesulfonamide		↓	
17,16	isopropyl myristate	új		
17,39	*6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	új	↓	↑
17,56	phytyl acetate			új (v.)
17,74	(Z,E)-2,13-octadecadien-1-ol			új (v.)
17,96	homosalate	↑		
18,41	dodecyl isobutyl carbonate		↓	↓*

\* eltérő viselkedés tapasztalható az egyes árpafajták között

↑ időben növekvő intenzitás

új: fertőzés hatására megjelenő új vegyületek

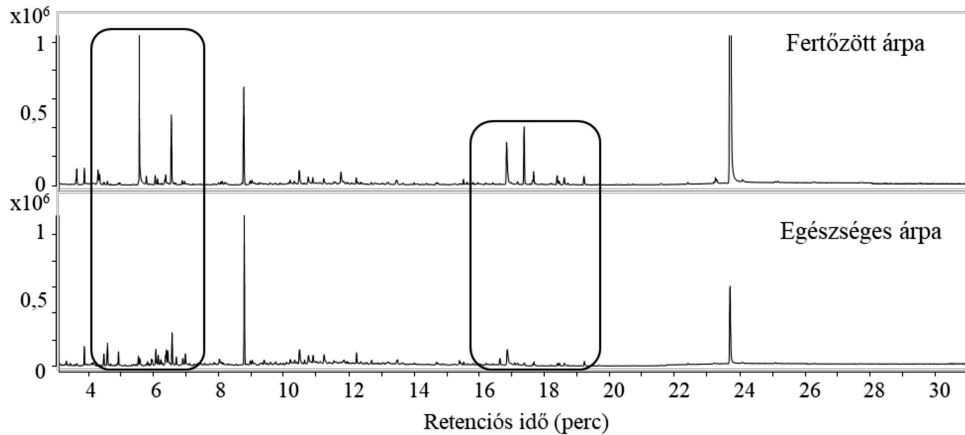
↓ időben csökkenő intenzitás

↓\* kezdeti mintában és kontrollban nagy, idő előrehaladtával csökken

↓↓ idő előrehaladtával &lt;LOD

– Mennyisége időben nem változik

sn: szedett növény esetén megjelenő vegyület



1. ábra: Egészséges és fertőzött Mv Initium árpa TIC kromatogramja

Bár az úgynevezett green leaf volatiles-ok (GLVs) az ép növényi szövetben is jelen vannak, mechanikai sérülés hatására megnő a koncentrációjuk (Matsui 2006). Mivel a nektrotrof gombák elpusztítják a gazdanövény sejtjeit, kártételük okozhat megnövekedett GLV termelést (Ameje és mtsai 2018). A 2-hexanol két fajtánál (Harrington, Mv Initium) is új vegyületként jelentkezett a fertőzés hatására. A (Z)-3-hexenyl acetate a Harrington fajtánál mechanikai sebzés, míg az Mv Initium fajtánál a fertőzés hatására jelent meg. Piesik és mtsai (2011) vizsgálatában *Fusarium* spp. fertőzött árpák illatanyag-profiljában szintén nagyobb mennyiségben volt megtalálható. A 3-hexen-1-ol, ami a fertőzött Mv Initium illatanyagprofiljában új vegyületként jelent meg, azonban a KH Hunor illatanyag-profiljában csökkenést mutatott. Ennek a csökkenésnek ellentmond Ameje és mtsai (2018) 51 tanulmányt feldolgozó metaanalízise, ami szerint gombás fertőzéseknél a GLV kibocsátása folyamatos.

A Harrington fajta fertőzésekor megjelenő új vegyületek közül a styrene-t, a naphthalene-t, a decanalt és a heptanalt megtalálták táptalajon nevelt *Fusarium graminearum* illatanyag-profiljában (Buško és mtsai 2014). Különböző penészgombák által megfertőzött árpaszemek illatanyag-profiljában a három aldehid magasabb koncentrációban volt jelen, mint a normál illatú minták esetében (Olsson és mtsai 2002). A decanal (Tabata és mtsai 2011) és az

octanal (Tao és mtsai 2013) vegyületeket már leírták különböző fertőzések markereiként. Az időben növekvő (toluene, D-limonene, nonanal, triacetin,  $\alpha$ -pinene, sulcatone) vagy csökkenő (6-methyl tridecane, azulene, 2,2,4,6,6-pentymethyl-heptane) intenzitású vegyületek alapján a fertőzés korai és kései stádiuma felismerhető (6. táblázat).

A 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone a Harrington és KH Hunor fajtáknál marker vegyületként viselkedik, mennyisége nő, míg az Initium fajta illatanyagprofiljában mennyisége kisebb volt, mint a kontroll növényben. Lippolis és mtsai (2014) vizsgálatában a *Fusarium* fajokkal fertőzött búzamintákban a vomitoxin mennyiségével a 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone koncentrációja is nőtt.

Az Mv Initium illatanyagprofiljában megjelenő feltételezett markerek közül a levomenthol (Karami és mtsai 2017) és 4-ethylbenzaldehyde (Tabata és mtsai 2011) vegyületeket már leírták különböző fertőzések markereiként. Mivel a táblázatban szereplő 11 vegyület hasonló tendenciát mutatott, így feltételezhetően a többi vegyületet is a fertőzés megjelenéséhez köthetjük, tehát annak markerei lehetnek.

A (+)- $\alpha$ -pinene vegyület intenzitása minden fajta illatanyagprofiljában nőtt a fertőzés hatására, így egyértelműen marker vegyületnek számít.

A sulcatone, D-limonene vegyületek intenzitása általában nőtt a fertőzésnek köszönhetően,



míg az azulene és dodecyl isobutyl carbonate intenzitása csökkent.

### Búza, paradicsom és csiperkegomba illatanyagainak változása fertőzés hatására

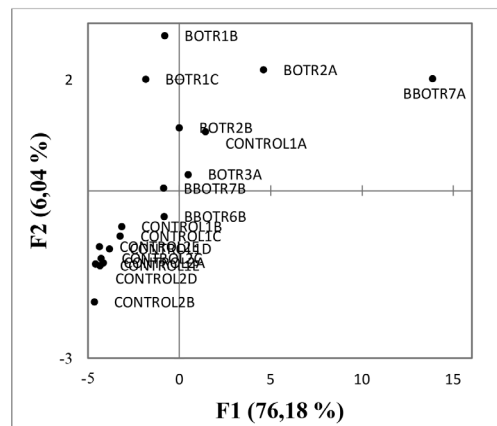
#### *Búza illatanyagainak változása lisztharmat fertőzés hatására*

A búza teljes VOC profilja közel 50 illékony vegyületet tartalmaz. Ezek közül a legnagyobb intenzitású a *p*-ethylacetophenone, *p*- és *o*-xylene, limonene, ethyl-benzaldehyde, diethyl-benzene,  $\alpha$ -pinene, nonane, 3-carene, pseudocumol, methyl-benzene, ethyl-benzene, decanal, nonanal, dodecane, *p*-, *m*-cymene és indane vegyületeket. Méréseink során sikeresen találtunk olyan vegyületeket, amelyek csak az egészséges vagy csak a fertőzött növények esetén jelentek meg. Az 1-octen-3-ol és a 3-octanone alkalmas lehet a fertőzés korai kimutatására. Ezeknek a vegyületeknek az intenzitása jellemzően növekedett a fertőzés előrehaladtával, tehát biomarkerként szolgálhatnak a búza lisztharmattal való fertőzöttségének detektálására. Bár búza esetén lisztharmat fertőzésre utaló biomarkereket még nem írtak le az irodalomban, de Tabata és mtsai (2011) vizsgálatai során lisztharmattal fertőzött pézsmatök illatanyagprofiljában az 1-octen-3-ol és a 3-octanone szintén új vegyületeként jelentkezett. Eva-Maria Becker doktori értekezésében mindkét vegyületet *Fusarium* fertőzés hatására változó vegyületekként mutatja be kukoricán (Becker 2013.). Az 1-octen-3-ol és 3-octanon vegyületeket tárolt gabonafélék penészes fertőzésének jeleként is szokták tekinteni (Boerjesson és mtsai 1989, Kaminski és mtsai 1974), és irodalmi adatok alapján mindkét vegyületet maga a patogén gomba bocsájta ki (Boerjesson és mtsai 1989).

#### *Paradicsom illatanyagainak változása szürkepenész fertőzés hatására*

A vizsgálatok elején összevetettük az egészséges és a szürkepenésszel fertőzött paradicsomok teljes ion kromatogramját (TIC).

Megbízható eredmények elérése érdekében ezeket a vizsgálatokat 10 párhuzamos mérésben végeztük el, mind kontrol, mind fertőzött növények esetén. Az azonosítás során összesen 78, a paradicsomra jellemző illékony vegyületet detektáltunk, többek között: hexanal, *p*-xylene, 3-carene, 1*R*- $\alpha$ -pinene, 2(10)-pinene,  $\beta$ -mycrene,  $\alpha$ - és  $\beta$ -phellandrene,  $\alpha$ - és  $\gamma$ -terpinene, linalool, decanal,  $\beta$ - és  $\gamma$ -elemene, caryophyllene, cubebol vegyületeket (Thelen és mtsai 2005). A fertőzött növények illatanyagprofiljában 34 olyan vegyületet találtunk, amelyek az egészséges növények illatanyagprofiljában nem jelentek meg. Ezek jellemzően kis intenzitású komponensek, amelyek a *B. cinerea* biomarkerei lehetnek; például a 3-pentanone, 3-hexen-1-ol, *p*-menth-2-en-1,4-diol és dimethyl sulfone vegyületek. A korábbi 78 vegyületre elvégzett főkomponens analízissel (PCA, principal component analysis) – főleg a második főkomponens mentén – a fertőzött és az egészséges növények elkülöníthetők (2. ábra).

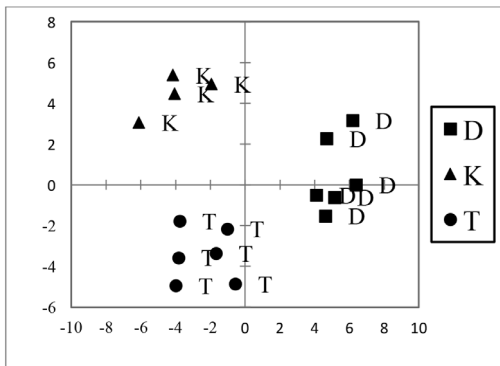


2. ábra: Egészséges és szürkepenésszel fertőzött paradicsom PCA ábrája. Az összes magyarázott variancia 82,22 %. F1: első főkomponens, F2: második főkomponens

#### *Csiperkegomba illatanyagainak változása zöld- és pókhálós penész fertőzés hatására*

Kereskedelmi forgalomban kapható csiperkegombát fertőztünk zöldpenésszel (*Trichoderma aggressivum*) és pókhálós penésszel (*Dactylium dendroides*). A mérések eredményeként összesen 104 vegyületet találtunk

a kromatogramon, amelynek több mint felét sikerült azonosítani. A mérés során kapott jellemző vegyületek többek között: octane, nonane, decane,  $\beta$ -elemene, toluene, 2-octen-1-ol, 3-octanone; az utóbbi kettőt Picardi és Issenberg (1973) is leírta *Agaricus bisporus* illatanyagából. A zöldpenész illékony vegyületeivel már korábban is dolgoztunk, jellemző biomarkereit leközlöttük (Radványi és mtsai 2014). A kiértékelés során szintén PCA-t használtunk, amelynek segítségével az elkülönülésben szerepet játszó főbb vegyületeket határoztuk meg. PLS-DA (legkisebb négyzetek elvén alapuló diszkriminancia analízis, Partial Least Squares- Differentiation Analysis) módszert használtunk különböző csoportok meghatározásához (3. ábra). Az illatanyagok változása alapján nem csak az egészséges gombafejeket sikerült elkülönítenünk a fertőzött csiperkéktől, de a fertőzéstől eltelt napok számára is következtetni tudtunk.



3. ábra: Egészséges és fertőzött csiperkegomba csoportok meghatározása az 5. napon. K: kontroll, egészséges csiperkegomba, T: zöldpenésszel fertőzött csiperkegomba, D: pókhálós penésszel fertőzött csiperkegomba

### Kitekintés

A kísérleti munkáinkat gázkromatográfhoz kapcsolt elektroantennográffal (GC-EAD) kívánjuk folytatni. A módszer lényege, hogy a gázkromatográf oszlopán elvált illékony komponenseket egyidőben kétféle módon detektáljuk: lángionizációs detektorral és egy elektródák közé befogott élő rovarcsáppal. Ha az érkező

komponensek érzékelésére a rovar rendelkezik receptorral, megváltozik a csáp elektromos potenciálja és ezt a változást az EAD műszerrel képesek vagyunk mérni. GC-EAD kapcsolt technikával vizsgáltak már többek között Lepidoptera (Molnár és mtsai 2017), Diptera (Molnár és mtsai 2009, Scheidler és mtsai 2015), valamint Coleoptera rendbe (Zhang és mtsai 2008) tartozó rovarokat. Ennek segítségével lehetőségünk nyílik az egészséges és a fertőzött növények illatprofiljának különbségét okozó komponensekre olyan receptorokat találni, amelyek érzékenyebbek lehetnek a mesterséges detektoroknál. Az eredmények bővítésével, adatbázisba rendezésével egy olyan platform létrehozása a célunk, amely képes a korai, vizuálisan még nem megfigyelhető betegségeket jelezni. Ennek érdekében egy olyan mesterséges szaglószer “eOrr” létrehozásán dolgozunk, amely a rovarok nagy érzékenységu szaglőreceptorait használja fel *in vitro* mérések során. Ehhez ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) szaglőreceptorai (OR) és koreceptorai (ORCO) mellett kalcium hatására fluoreszcencia növekedést okozó fehérje (GCaMP) heterológ kifejezésére képes sejt vonalakat hozunk létre. Az OR-ORCO komplex bizonyos illatanyagok hatására kalciumot enged a sejtbe, így azok fluoreszcenciája a GCaMP jelenléte miatt megnő. A szaglőreceptorokat kifejező sejt vonalakat egymás mellé rendezve illatanyagok/illatanyag keverékek hatására fluoreszcencia mintázatot kapunk. Ezt az illat “ujjlenyomatot” különböző vegyületekre, illetve növények különböző egészségi állapotaira meghatározhatjuk. Az egyes receptorokon mutatott reakciókat a közös adatbázisba feltöltve és korábbi eredményekkel kiegészítve meghatározzuk a betegséget előrejelző anyagokat, így az „eOrr” segíthet a mezőgazdaságban a lehető legkorábbi védekezés megkezdésében.

### Köszönetnyilvánítás

A kutatás az NTP-NFTÖ-18-B-0191 számú pályázat, a GINOP-2.3.2-15-2016-00051 számú projekt és az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült. Az árpás



kísérletekhez az üvegházát és anyagokat a K-119276 számú OTKA pályázat biztosította. Továbbá köszönet illeti *Bakonyi Józsefet* és *Mészáros Klárát* amiért a búzás és árpás kísérletekhez a fertőzéseket és növényeket biztosították.

## IRODALOM

- Ameye, M., Allmann, S., Verwaeren, J., Smagghe, G., Haesaert, G., Schuurink, R. C. and Audenaert, K. (2018). Green leaf volatile production by plants: a meta-analysis. *New Phytologist*, 220(3): 666–683.
- Arthur, C. L. and Pawliszyn, J. (1990): Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Analytical Chemistry*, 62(19): 2145–2148.
- Becker E.-M. (2013): New strategies for the detection of Fusarium infection and mycotoxin contamination of cereals and maize. Doktori disszertáció.
- Boerjesson T., Stoellman U., Adamek, P. and Kaspersson A. (1989): Analysis of volatile compounds for detection of molds in stored cereals. *Cereal Chemistry*, 66: 300–304.
- Buško, M., Kulik, T., Ostrowska, A., Góral, T. and Perkowski, J. (2014). Quantitative volatile compound profiles in fungal cultures of three different Fusarium graminearum chemotypes. *FEMS microbiology letters*, 359(1), 85–93.
- Colquhoun, T.A., Schwieterman, M.L., Gilbert, J.L., Jaworski, E.A., Langer, K.M., Jones, C.R., Rushing, G.V., Hunter, T.M., Olmstead, J., Clark, D.G. and Foltz, K.M. (2013): Light modulation of volatile organic compounds from petunia flowers and select fruits. *Postharvest Biology and Technology*, 86: 37–44.
- Crespo, E., Hordijk, C. A., De Graaf, R. M., Samudrala, D., Cristescu, S. M., Harren, F. J. M. and Van Dam, N. M. (2012): On-line detection of root-induced volatiles in *Brassica nigra* plants infested with *Delia radicum* L. root fly larvae. *Phytochemistry*, 84: 68–77.
- Derendorf, L., Holzinger, R., Wishkerman, A., Keppler, F. and Röckmann, T. (2010): Emissions of volatile organic compounds from dry leaf litter and their dependence on temperature. In EGU General Assembly Conference Abstracts, 12: 4001.
- Dicke, M. and Loreto, F. (2010): Induced plant volatiles: from genes to climate change. *Trends in Plant Science*, 15(3): 115–117.
- Dudareva, N., Klempien, A., Muhlemann, J. K. and Kaplan, I. (2013): Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist*, 198(1): 16–32.
- Elad, Y., Pertot, I., Cotes Prado, A. M. and Stewart, A. (2016): Plant Hosts of *Botrytis* spp. In S. Fillinger and Y. Elad (Eds.), *Botrytis -- the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems* (pp. 413–486).
- Jansen, R.M.C., Hofstee, J.W., Wildt, J., Vanthoor, B.H.E., Verstappen, F.W.A., Takayama, K., Bouwmeester, H.J. and Van Henten, E.J. (2010): Health monitoring of plants by their emitted volatiles: A model to predict the effect of *Botrytis cinerea* on the concentration of volatiles in a large-scale greenhouse. *Biosystems Engineering*, 106(1): 37–47.
- Kaminśki E., Stawicki S. and Wąsowicz E. (1974): Volatile flavor compounds produced by molds of Aspergillus, Penicillium, and Fungi imperfecti. *Applied Microbiology*, 27: 1001–1004.
- Karami N., Karami A., Aliahmadi A., Mirzajan F., Rezadoost H., Ghassempour A. and Fallah F. (2017): Identification of bacteria using volatile organic compounds. *Cellular and Molecular Biology*, 63(2): 112–121.
- Kasal-Slavik, T., Eschweiler, J., Kleist, E., Mumm, R., Goldbach, H. E., Schouten, A. and Wildt, J. (2017): Early biotic stress detection in tomato (*Solanum lycopersicum*) by BVOC emissions. *Phytochemistry*, 144: 180–188.
- Köllner, T. G., Schnee, C., Gershenzon, J. and Degenhardt, J. (2004): The sesquiterpene hydrocarbons of maize (*Zea mays*) form five groups with distinct developmental and organ-specific distributions. *Phytochemistry*, 65(13): 1895–1902.
- Laothawornkitkul, J., Taylor, J. E., Paul, N. D. and Hewitt, C. N. (2009): Biogenic volatile organic compounds in the Earth system. *New Phytologist*, 183 (1): 27–51.
- Lippolis, V., Pascale, M., Cervellieri, S., Damascelli, A. and Visconti, A. (2014). Screening of deoxynivalenol contamination in durum wheat by MOS-based electronic nose and identification of the relevant pattern of volatile compounds. *Food Control*, 37: 263–271.
- Loreto, F., Barta, C., Brilli, F. and Nogue, I. (2006): On the induction of volatile organic compound emissions by plants as consequence of wounding or fluctuations of light and temperature. *Plant, Cell and Environment*, 29(9): 1820–1828.
- Loreto, F. and Schnitzler, J. P. (2010): Abiotic stresses and induced BVOCs. *Trends in Plant Science*, 15(3): 154–166.
- Matsui, K. (2006). Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Current opinion in plant biology*, 9(3): 274–280.
- Molnár, B., Kárpáti, Z., Szocs, G. and Hall, D. R. (2009): Identification of female-produced sex pheromone of the honey locust gall midge, *Dasineura gleditschiae*. *Journal of Chemical Ecology*, 35(6): 706–714.
- Molnár, B. P., Tóth, Z. and Kárpáti, Z. (2017): Synthetic blend of larval frass volatiles repel oviposition in the invasive box tree moth, *Cydalima perspectalis*. *Journal of Pest Science*, 90(3): 873–885.

- Olsson, J., Börjesson, T., Lundstedt, T. and Schnürer, J. (2002). Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grains by GC-MS and electronic nose. *International Journal of Food Microbiology*, 72(3): 203–214.
- Owen, S. M., Boissard, C. and Hewitt, C. N. (2002): Volatile organic compounds (VOCs) emitted from 40 Mediterranean plant species: Atmospheric Environment, 35(32): 5393–5409.
- Picardi, S. M. and Issenberg, P. (1973). Volatile constituents of mushrooms (*Agaricus bisporus*). Changes which occur during heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21(6): 959–962.
- Piesik, D., Pańka, D., Delaney, K. J., Skoczek, A., Lamparski, R. and Weaver, D. K. (2011). Cereal crop volatile organic compound induction after mechanical injury, beetle herbivory (*Oulema* spp.), or fungal infection (*Fusarium* spp.). *Journal of plant physiology*, 168(9): 878–886.
- Scheidler, N. H., Liu, C., Hamby, K. A., Zalom, F. G. and Syed, Z. (2015): Volatile codes: Correlation of olfactory signals and reception in *Drosophila*-yeast chemical communication. *Scientific Reports*, 5(April): 1–13.
- Schuh, G., Heiden, A. C., Hoffmann, T., Kahl, J., Rockel, P., Rudolph, J. and Wildt, J. (1997): Emissions of Volatile Organic Compounds from Sunflower and Beech: Dependence on Temperature and Light Intensity. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 27(3): 291–318.
- Spinelli, F., Cellini, A. and Marchetti, L. (2011): Emission and function of volatile organic compounds in response to abiotic stress. *Agricultural and Biological Sciences* » “Abiotic Stress in Plants - Mechanisms and Adaptations”, Book Edited by Arun Shanker and B. Venkateswarlu
- Tabata, J., De Moraes, C. M. and Mescher, M. C. (2011). Olfactory cues from plants infected by powdery mildew guide foraging by a mycophagous ladybird beetle. *PLoS One*, 6(8): e23799.
- Tao N., Jia L., Zhou H. and He X. (2013): Effect of octanal on the mycelial growth of *Penicillium italicum* and *P. digitatum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(4): 1169–1175.
- Thelen, J., Harbinson, J., Jansen, R., Van Straten, G., Posthumus, M. A., Woltering, E. J. and Bouwmeester, H. J. (2005). The sesquiterpene  $\alpha$ -copaene is induced in tomato leaves infected by *Botrytis cinerea*. *Journal of Plant Interactions*, 1(3): 163–170.
- Vuts J., Konczor S., Imrei Z., Jósmai J. K., Lohonyai Z., Molnár B. P., Kárpáti Z., Szocs G. és Tóth M. (2018): Módszerek a kémiai ökológiában. *Növényvédelem*, 79 (54)(3): 89–109.
- Zhang, Q. H., Erbilgin, N. and Seybold, S. J. (2008): GC-EAD responses to semiochemicals by eight beetles in the subcortical community associated with Monterey pine trees in coastal California: Similarities and disparities across three trophic levels. *Chemoecology*, 18(4): 243–254.

## EXAMINATION OF HEALTHY AND INFECTED AGRICULTURAL CROP'S AND THE COMMON MUSHROOM VOLATILE PROFILE – PRELIMINARY STUDY

D. Radványi<sup>1,2</sup>, M. O. Szélenyi<sup>1</sup>, K. Á. Hamow<sup>1</sup>, Zs. Ambrózy<sup>1</sup>, P. Lukács<sup>1</sup>, K. Puskás<sup>3</sup>, M. Cséplő<sup>3</sup> and B. P. Molnár<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Plant Protection Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, Brunszvik street 2. Martonvásár H-2462 Hungary

<sup>2</sup>Szent István University, Faculty of Food Science, Department of Applied Chemistry, Villányi street 29-43. Budapest H-1118 Hungary

<sup>3</sup>Cereal Breeding Department, Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, Brunszvik street 2. Martonvásár H-2462 Hungary  
e-mail: radvanyi.dalma@gmail.com (radvanyi.dalma@agrar.mta.hu)

Our newly started laboratory, founded by a GINOP grant (with „Analysis of natural odor patterns and utilization in agricultural sciences” title), operates in Martonvásár since 2017. The main aim of our research group is to develop a new type of artificial detector system that will allow to determine the complex odor profile composition of agricultural, cultivated areas. So far, 3 plant species – wheat, barley, tomato – and button mushroom’s volatile pattern analysis were carried out. Distinguishing of healthy and infected samples were implemented during experiments. The volatile pattern of plants (and mushroom) were slightly changed due to infections.

**Keywords:** Volatile collection, GC-MS (gas chromatography-mass spectrometry), plant volatiles, infected plants

Érkezett: 2019. május 20.